

5    **Verfahren und Gerät zur Detektion eines in den Körper eines Lebewesens injizierten Farbstoff-Bolus**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Detektion eines in den Körper eines Lebewesens injizierten Farbstoff-Bolus durch Einstrahlung optischer  
10    Strahlung in den Körper und Detektion einer auf der Körperoberfläche auftretenden Antwort-Strahlung.

Die Erfindung betrifft ferner ein Gerät zur Detektion eines in den Körper eines Lebewesens injizierten Farbstoff-Bolus mit einer optischen Strahlungsquelle zur Einstrahlung einer optischen Strahlung in den Körper und  
15    mit einer Detektionsanordnung zur Detektion einer aus dem Körper austretenden Antwort-Strahlung.

Es ist bekannt, die Durchblutung von Geweben mittels eines Kontrastmittel-Bolus zu untersuchen. Hierbei wird das Kontrastmittel innerhalb einer  
20    kurzen Zeit injiziert und der zeitliche Verlauf des Kontrastmittels durch den Körper verfolgt. Bei verminderter Durchblutung, beispielsweise infolge eines teilweisen Verschlusses von Arterien, trifft der Bolus langsamer in einem Zielgebiet ein.

25    Die Standardtechnik zur nicht-invasiven Beurteilung der Durchblutung mit Hilfe eines Kontrastmittel-Bolus ist die Magnet-Resonanz-Bildgebung unter Verwendung von Gd-DTPA (Gadolinium Diethylen Triamin Pentaacetic Acid).

30    Eine andere bekannte Methode ist die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) unter Verwendung von Radioisotopen.

---

Diese bekannten Verfahren sind aufgrund der erforderlichen Messvorrichtungen apparativ aufwendig und teuer und können daher nicht zur kontinuierlichen Überwachung von Patienten am Krankenbett, im Operationssaal oder auf der Intensivstation von Kliniken eingesetzt werden.

5

- Es ist bereits untersucht worden, die nicht-invasive Beurteilung der Durchblutung (Perfusion) durch optische Kontrastmittel zu ermöglichen. Ein für den Einsatz am Menschen zugelassener Farbstoff ist beispielsweise Indocyaningrün (ICG). Ein derartiger Farbstoff lässt sich im Gewebe mit Hilfe
- 10 der diffusen Nahinfrarot-Reflektometrie oder der diffusen Nahinfrarot-Spektroskopie erfassen, sodass der zeitliche Verlauf eines Farbstoff-Bolus in ähnlicher Weise wie mit den oben erwähnten Verfahren verfolgt werden kann. Optische Messverfahren hätten den Vorteil, dass sie mit weniger Aufwand und mit kompakten und transportablen Messvorrichtungen reali-
- 15 sierbar sind. Ein besonderer Bedarf besteht für die Ermittlung von Gefäßverschlüssen im Gehirn, sodass untersucht worden ist, ob sich das optische Verfahren am Kopf ausführen lässt. Die Methode der Nahinfrarot-Spektroskopie am Kopf verwendet kontinuierliches Licht, das mit einer Faser bzw. einem Faserbündel zur Kopfoberfläche geführt wird. Die diffu-
- 20 se Reflexion des nahinfraroten Lichts wird im Abstand von einigen Zentimetern (z. B. 3 cm) auf der Kopfoberfläche gemessen. Das detektierte Licht durchläuft verschiedene Schichten, insbesondere Haut und Knochen und wird dabei gestreut und absorbiert. Beim Erwachsenen haben die über der Großhirnrinde liegenden Gewebeschichten einer erhebliche Dicke
- 25 (ungefähr 1 cm), sodass nur ein kleiner Anteil des eingestrahnten Lichts zum darunter liegenden Kortex gelangt, dessen Perfusion primär von den Interesse ist. Auf diesem Weg ist somit keine Messgröße zu gewinnen, die Informationen ausschließlich über den Kortex enthält.
- 30 Der beispielsweise verwendbare Farbstoff ICG ist ein „Blood-pool agent“, d. h. der Farbstoff verbleibt im Blut und bindet sich nicht an Gewebe. Seine Konzentration im Körper nimmt in dem Maße wieder ab, wie er über die

Leber abgebaut wird. Der Farbstoff wird intravenös injiziert und gelangt über die rechte Herzkammer in den Lungenkreislauf und anschließend über die linke Herzkammer in den Körperkreislauf und somit sowohl in den Kortex als auch in die darüber liegenden (extrazerebralen) Haut- und Kno-  
5 chenschichten. Der Farbstoff-Bolus hat beim Eintreffen im Kopf eine zeitliche Breite von 10 Sekunden. Er trifft im Kortex früher als in den extrazerebralen Schichten ein. Bei intakter Blut-Hirn-Schranke verlässt er den Kortex schnell wieder, während das Auswaschen z. B. in der Haut deutlich langsamer erfolgt. Eine solche Kinetik ist auch von den kernspintomographischen Untersuchungen mit Kontrastmittel (Gd-DTPA) bekannt.  
10 Das Eintreffen des Bolus in einem bestimmten Hautareal ist von der lokalen Gefäßverteilung abhängig und damit inhomogen. Wenn das Messsignal erhebliche Signalanteile aus der Haut enthält, kann die Kinetik des Kontrastmittel-Bolus deshalb keine relevante Information über die Durchblutung des Kortex liefern.  
15

Es sind Verfahren entwickelt und veröffentlicht worden, um einen tiefen aufgelösten Nachweis von Absorptionsänderungen und damit eine Separation von Signalanteilen aus dem Kortex und darüber liegenden Schichten zu erreichen. Hierzu sind auch kurze Laserimpulse verwendet worden,  
20 um die diffuse Reflexion zeitaufgelöst zu detektieren. Dabei ist der zeitliche Abstand des Antwortsignals in seiner zeitlichen Verteilung berücksichtigt worden, indem beispielsweise das Integral, ein mittlerer zeitlicher Abstand oder die zeitliche Varianz (Breite der Antwortkurve) ermittelt worden  
25 sind. Eine exakte Trennung von Signalanteilen, die aus intra- und extrazerebralen Schichten herrühren, ist auch bei diesen Methoden nicht möglich. Der diffusen Reflexion sind nämlich alle Veränderungen in den Absorptions- und Streueigenschaften des durchstrahlten Gewebes aufgeprägt, also nicht nur die durch den Farbstoff-Bolus bedingten Absorptionsänderungen.  
30 Das betrifft insbesondere physiologische Einflussgrößen, wie z. B. Herzschlag und Atmung, die damit die Analyse der Signalantwort auf den Bolus erschweren. Darüber hinaus ändert sich die diffuse Reflexion durch

den Farbstoff-Bolus in der Größenordnung von 10 %. Die Unsicherheiten durch die oben erwähnten physiologischen Einflussgrößen beziehen sich jedoch stets auf die volle Größe des Signals, sodass der Dynamikbereich des Nutzsignals erheblich beeinträchtigt wird.

5

Es ist erwogen worden, eine weiterführende Analyse zur tiefen aufgelösten Bestimmung von Absorptionsänderungen durchzuführen. Dies setzt jedoch die Kenntnis der Absorptions- und Streukoeffizienten der verschiedenen Gewebetypen voraus, die jedoch für die Untersuchung am Lebewesen in der Praxis zumindest teilweise nicht ermittelt werden können.

10

Es besteht somit ein erhebliches Bedürfnis, einen injizierten Farbstoff-Bolus mit einem einfachen kompakten und transportablen Gerät zu ermöglichen.

15

Zur Lösung dieser Aufgabe ist erfindungsgemäß ein Verfahren der eingangs erwähnten Art dadurch gekennzeichnet, dass ein fluoreszierender Farbstoff injiziert wird, dass eine optische Anregungsstrahlung in den Körper eingestrahlt wird und dass eine zeitliche Relation zwischen einer durch die Anregungsstrahlung ausgelösten Fluoreszenzstrahlung und der Anregungsstrahlung gemessen wird.

20

Zur Lösung der genannten Aufgabe ist ferner ein Gerät der eingangs erwähnten Art dadurch gekennzeichnet, dass die optische Strahlungsquelle zur Aussendung von Pulsen eine Anregungsstrahlung mit einer ersten Frequenz ausgebildet, die Detektionsanordnung zur Detektion einer Antwort-Strahlung mit einer von der ersten Frequenz verschiedenen zweiten Frequenz ausgelegt und zur Bestimmung einer zeitlichen Relation zwischen der ausgesandten Anregungsstrahlung und wenigstens eines Teils der detektierten Antwortstrahlung eingerichtet ist.

25

30

Erfindungsgemäß wird somit eine Fluoreszenzstrahlung detektiert, die durch eine vorzugsweise gepulste Anregungsstrahlung in dem Farbstoff-Bolus aufgrund seiner fluoreszierenden Eigenschaft generiert wird. Gemessen wird dabei ein zeitlich aufgelöstes Antwortsignal, wobei mindestens der zeitliche Abstand eines Teils des Antwortsignals von dem auslösenden Anregungspuls als Maß für die Laufzeit des Fluoreszenzsignals durch die Gewebeschichten bestimmt wird. Die gepulste Anregungsstrahlung hat vorzugsweise eine Pulsdauer von einigen Pikosekunden (ps). Die Zeitauflösung des generierten Fluoreszenzsignals liegt im Nanosekundenbereich oder vorzugsweise im Pikosekundenbereich.

Die Detektion der Fluoreszenzstrahlung hat den Vorteil, dass sie spezifisch für den injizierten Farbstoff ist, also nur dann vorhanden ist, wenn sich der injizierte Farbstoff in dem durchstrahlten Gewebe befindet. Für die Fluoreszenzstrahlung treten daher prinzipiell andere Signalverläufe auf als bei der diffusen Reflexion. Darüber hinaus entstehen für die zeitlichen Abstände des Fluoreszenzlichts von dem generierenden Anregungspuls (entsprechend der Laufzeit der Fluoreszenzphotonen durch den das Gewebe) Besonderheiten auf, die es ermöglichen, zwischen intrazerebralen und extrazerebralen Bolus-Antworten zu differenzieren. So nimmt beispielsweise die mittlere Laufzeit des Fluoreszenzlichts zu Beginn des Farbstoff-Bolus zu, um danach deutlich abzufallen. Ein derartiges Verhalten zeigt reflektiertes Licht nicht. Darüber hinaus kann die Fluoreszenzintensität auch über einen deutlich größeren Dynamikbereich als die diffuse Reflexion verfolgt werden, da die Fluoreszenzintensität keinem notwendigerweise bestehenden Untergrundsignal überlagert ist. Erfindungsgemäß wird ein Farbstoff verwendet, der unspezifisch ist, also nicht an spezielle Zellen bindet, wie dies bei beispielsweise an bestimmte Krebszellen bindenden Fluoreszenzmarkern der Fall ist. Der verwendete Farbstoff ist vorzugsweise ein Blood-pool agent.

Grundsätzlich ist für Gewebeuntersuchungen der Einsatz fluoreszierender Farbstoffe bereits bekannt. Hiervon unterscheidet sich die vorliegende Erfindung durch die zeitlich aufgelöste Ermittlung der Fluoreszenzantwort auf einen Anregungspuls mit den Besonderheiten, die sich aus dem Verlauf der Detektion des Farbstoff-Bolus ergeben.

Die Erfindung lässt sich nicht nur für die, allerdings eine hohe Relevanz aufweisende, Untersuchung im Hirnbereich verwenden, sondern auch für die Beurteilung der Perfusion anderer, unterhalb der Körperoberfläche liegende Organe, insbesondere auch der Lunge.

Die Erfindung ermöglicht zahlreiche weitere Bestimmungen, wie beispielsweise der Dicke der extrazerebralen Gewebeschicht und der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke anhand einer Analyse der Kinetik des Auswaschens des Farbstoffes.

Sofern erforderlich, kann die Erfindung mit mehreren Sende- und Empfangsoptoden verfeinert werden, wobei die mehreren Optoden auch in unterschiedlichen Abständen angeordnet sein können.

Die Messung der zeitlichen Relation bzw. des zeitlichen Verlaufs der Fluoreszenzantwort kann auch durch Verwendung von hochfrequent moduliertem Licht erfolgen, wenn im Antwortsignal der Modulationsgrad und die Phase bestimmt werden.

Eine Verfeinerung der Fluoreszenzmessung kann dadurch erfolgen, dass das Fluoreszenzsignal spektral analysiert wird. Spezielle Farbstoffe verändern ihre Fluoreszenzfrequenz wenn sie am Blut angelagert werden. Doch die Feststellung der dadurch bewirkten Frequenzänderung kann daher auf die Herkunft der Fluoreszenzstrahlung aus am Blut angelagertem Farbstoff geschlossen werden.

Besonders zweckmäßig ist es, die erfindungsgemäße Messung der Fluoreszenzantwort mit einer an sich bekannten Messung der diffusen Reflexi-

on der Anregungsstrahlung zu kombinieren. Mit den daraus bei Anwendung bekannte Auswertungsmethoden erhältlichen Informationen können die aus der erfindungsgemäßen Messung der Fluoreszenzantwort ermittelten Informationen ergänzt und verifiziert werden.

5

Die Erfindung soll im Folgenden anhand eines in der Zeichnung dargestellten Ausführungsbeispiels näher erläutert werden. Es zeigen:

10

Figur 1 eine schematische Darstellung eines Ausführungsbeispiels eines erfindungsgemäßen Geräts

15

Figur 2 eine Kurvendarstellung für das Spektrum der Anregungswellenlängen und Emissionswellenlängen für den Farbstoff ICG

20

Figur 3 eine Darstellung der mittleren Photonen-Flugzeit der Fluoreszenzphotonen und der reflektierten Photonen beim Durchwandern des Farbstoff-Bolus

25

Figur 4 eine Darstellung der Änderung der Varianz der detektierten Flugzeit für die Fluoreszenzphotonen und die reflektierten Photonen.

30

Figur 1 zeigt einen Halbleiterlaser 1, der Lichtpulse mit einer Breite im Pikosekundenbereich und einer Wellenlänge von 780 nm aussendet. Der Ausgangsstrahl wird mit einer Linse 2 in einen Lichtleiter 3 eingekoppelt und auf einen zu untersuchenden Körper 4 eines Lebewesens gerichtet. Der Lichtleiter 3 endet in einer Halterung 5, die auch ein Detektions-Lichtleiterbündel 6 aufnimmt. Die Lichtleiter 3, 6 können durch die Halterung 5 mit der Haut des zu untersuchenden Körpers 4 in Kontakt gebracht

werden und stehen zweckmäßigerweise senkrecht auf der Hautoberfläche.

Das Lichtleiterbündel 6 teilt sich auf in einen ersten Detektions-Lichtleiter 6' und einen zweiten Detektions-Lichtleiter 6".

Der erste Detektions-Lichtleiter 6' ist mit einem Hochpassfilter 7 versehen, mit dem die Wellenlänge des Halbleiterlasers 1 unterdrückbar ist.

10 Der zweite Detektor-Lichtleiter 6" weist ein Abschwächungsfilter 8 auf. An beide Detektor-Lichtleiter 6', 6" ist jeweils ein Detektor 9, 10 in Form eines Fotovervielfachers angeschlossen, die beide durch eine Hochspannungsquelle 11 mit der erforderlichen Hochspannung versorgt werden. Die Fotovervielfacher können einzelne Photonenpulse detektieren. Ihre Ausgänge sind an eine Zählelektronik 13 angeschlossen, die durch einen vom Halbleiterlaser 1 ausgesandten Impuls über Starteingänge 12 gestartet wird, um den zeitlichen Abstand der in den Detektoren 9, 10 detektierten Photonen von dem Anregungsimpuls des Halbleiterlasers 1 zu bestimmen. Die so ermittelten Photonenlaufzeiten gelangen in einen Rechner 14, 20 der in Form eines Personal Computers ausgebildet sein kann.

Das in Figur 1 dargestellte Gerät wird zur Detektion einer injizierten Farbstoff-Bolus verwendet. Der Farbstoff-Bolus wird beispielsweise in die Armbeugen-Vene injiziert. Als geeigneter fluoreszierender Farbstoff kommt 25 Indocyaningrün (ICG) in Betracht.

Figur 2 zeigt das Anregungsspektrum für ICG, dessen Maximum bei etwa 780 nm liegt. Figur 2 lässt ferner das Emissionsspektrum von ICG erkennen, dessen Maximum bei etwa 810 nm liegt.

30

Die verwendete Anregungswellenlänge von 780 nm liegt somit im Anregungsmaximum von ICG. Die Messungen der Fluoreszenzstrahlung sind



mit einem Filter 7 durchgeführt worden, dessen Durchlasswert bei etwa 820 nm beginnt, um einen sicheren Abstand zur Anregungsstrahlung zu gewährleisten.

- 5 Der Aufbau in Figur 1 verdeutlicht, dass neben der Fluoreszenzmessung im Detektor 9 auch eine Reflexionsmessung im Detektor 10 durchgeführt wird. In beiden Fällen werden die Photonen-Flugzeiten gemessen, also der zeitliche Abstand zwischen dem ausgesandten Anregungsimpuls des Halbleiterlasers 1 und in den Detektoren 9, 10 detektierten Antwortpho-
- 10 nen.

Figur 3 zeigt die gemessene mittlere Flugzeit für die Fluoreszenzphotonen und die Photonen des reflektierten Lichtes beim Durchlaufen des Farbstoff-Bolus, der die Großhirnrinde nach etwa 60 Sekunden nach der Injektion durchläuft.

15

Figur 3 lässt erkennen, dass zu Beginn der Detektion des Farbstoff-Bolus die Laufzeit der Fluoreszenzphotonen signifikant ansteigt und nach dem Ende des Farbstoff-Bolus, der eine Breite von etwa 10 Sekunden aufweist, stark abfällt, um dann durch Eintreten des Farbstoffs in extrazerebrale Schichten wieder anzusteigen.

20

Demgegenüber zeigt die Messung des reflektierten Lichtes beim Durchtreten des Farbstoff-Bolus lediglich eine Verminderung der Laufzeit, die danach langsam wieder ansteigt. Die Kurven lassen erkennen, dass die Messung nur der reflektierten Photonen keine eindeutige Lokalisation der Breite des Bolus ermöglicht, da Effekte des extrazerebralen Gewebes sofort überlagert werden.

25

30 Figur 4 lässt ferner erkennen, dass die Varianz, also die Abweichungen der Messungen der Flugzeit beim Durchtritt des Bolus für die Fluores-

zenzphotonen signifikant abnimmt, während ein derartiger Effekt für das reflektierte Licht praktisch nicht zu beobachten ist.

Bereits an diesen Beispielen ist erkennbar, dass sich die Fluoreszenzpho-  
5 tonen beim Durchwandern des Farbstoff-Bolus deutlich anders verhalten  
als das reflektierte Licht, und daher eine bessere Differenzierung, bei-  
spielsweise zwischen intrazerebralen und extrazerebralen Effekten, er-  
möglicht.

10

15

20

25

30

35

40

## 5 Ansprüche

1. erfahren zur Detektion eines in den Körper eines Lebewesen injizierten Farbstoff-Bolus durch Eintrahlung optischer Strahlung in den Körper (4) und Detektion einer auf der Körperoberfläche auftretenden Antwort-Strahlung, **dadurch gekennzeichnet, dass** ein fluoreszierender Farbstoff injiziert wird, dass eine optisch Anregungsstrahlung in den Körper eingestrahlt wird und dass eine zeitliche Relation zwischen einer durch die Anregungsstrahlung ausgelösten Fluoreszenzstrahlung und der Anregungsstrahlung gemessen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Anregungsstrahlung als ein kurzer Puls ausgesandt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass ein zeitlicher Verlauf der durch die Anregungsstrahlung ausgelösten Fluoreszenzstrahlung bestimmt wird.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass zur Detektion der Fluoreszenzstrahlung die Frequenz der Anregungsstrahlung durch eine Filterung abgeblockt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass gleichzeitig und parallel eine Detektion der reflektierten Anregungsstrahlung vorgenommen wird.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektion der reflektierten Anregungsstrahlung ebenfalls zeitaufgelöst vorgenommen wird.
- 5 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die detektierte Fluoreszenzstrahlung durch eine Bestimmung der Verteilung der gemessenen zeitlichen Relation ausgewertet wird.
- 10 8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass ein Anstieg der Verteilung als Indikator für den Beginn des Farbstoff-Bolus verwendet wird.
- 15 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung der Anregungsstrahlung in den Körper (4) am Kopf zur Untersuchung des Hirns vorgenommen wird.
- 20 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung der Anregungsstrahlung in den Körper (4) im Bereich der Lunge vorgenommen wird.
- 25 11. Gerät zur Detektion eines in dem Körper (4) eines Lebewesens injizierten Farbstoff-Bolus mit einer optischen Strahlungsquelle (1) zur Einstrahlung einer optischen Strahlung in den Körper (4) und mit einer Detektionsanordnung (6-16) zur Detektion einer aus dem Körper (4) austretenden Antwort-Strahlung, **dadurch gekennzeichnet, dass** die optische Strahlungsquelle (1) zur Aussendung einer Anregungsstrahlung mit einer ersten Frequenz und die Detektionsanordnung zur Detektion einer Antwort-Strahlung mit einer von der ersten Frequenz verschiedenen zweiten Frequenz und zur Bestimmung einer zeitlichen Relation zwischen der ausgesandten Anre-
- 30

gungsstrahlung und wenigstens eines Teils der detektierten Antwort-Strahlung ausgebildet ist.

5 12. Gerät nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Strahlungsquelle (1) im Pulsbetrieb arbeitet.

10 13. Gerät nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsanordnung (6-14) zur Detektion eines zeitlichen Verlaufs der durch einen Puls der Anregungsstrahlung ausgelösten Fluoreszenzstrahlung eingerichtet ist.

15 14. Gerät nach einem der Ansprüche 11 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsanordnung (6-14) ein optischer Filter (7) zum Abblocken der Anregungsstrahlung aufweist.

20 15. Gerät nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsanordnung (6-14) einen zusätzlichen Detektorzweig (6'', 8, 10) zur Detektion reflektierter Anregungsstrahlung aufweist.

25 16. Gerät nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsanordnung (6-14) eine Auswertungseinrichtung (14) für zeitliche Änderungen der gemessenen zeitlichen Relation aufweist.

30

35

35

1/4

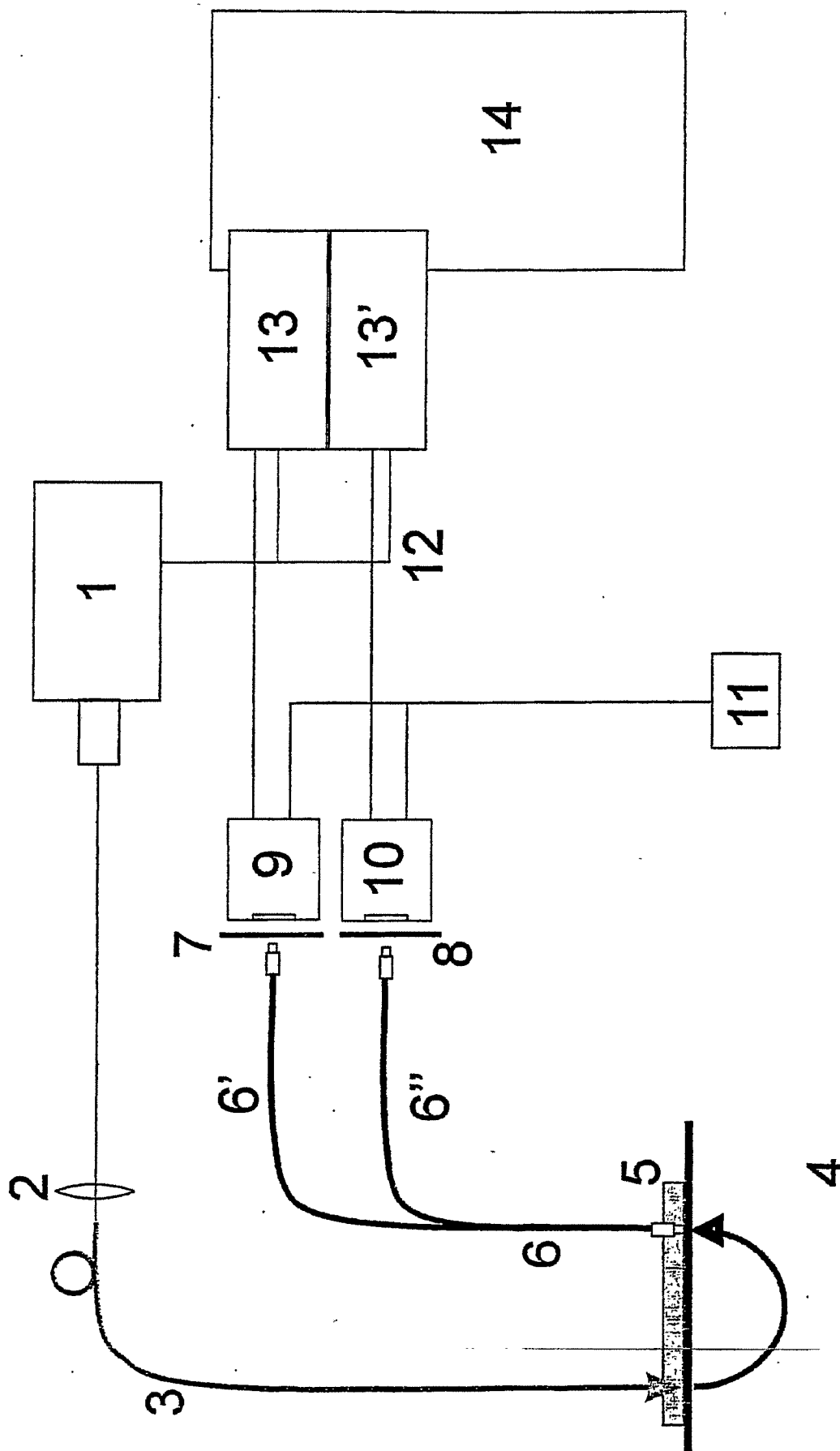


Fig. 1

2/4

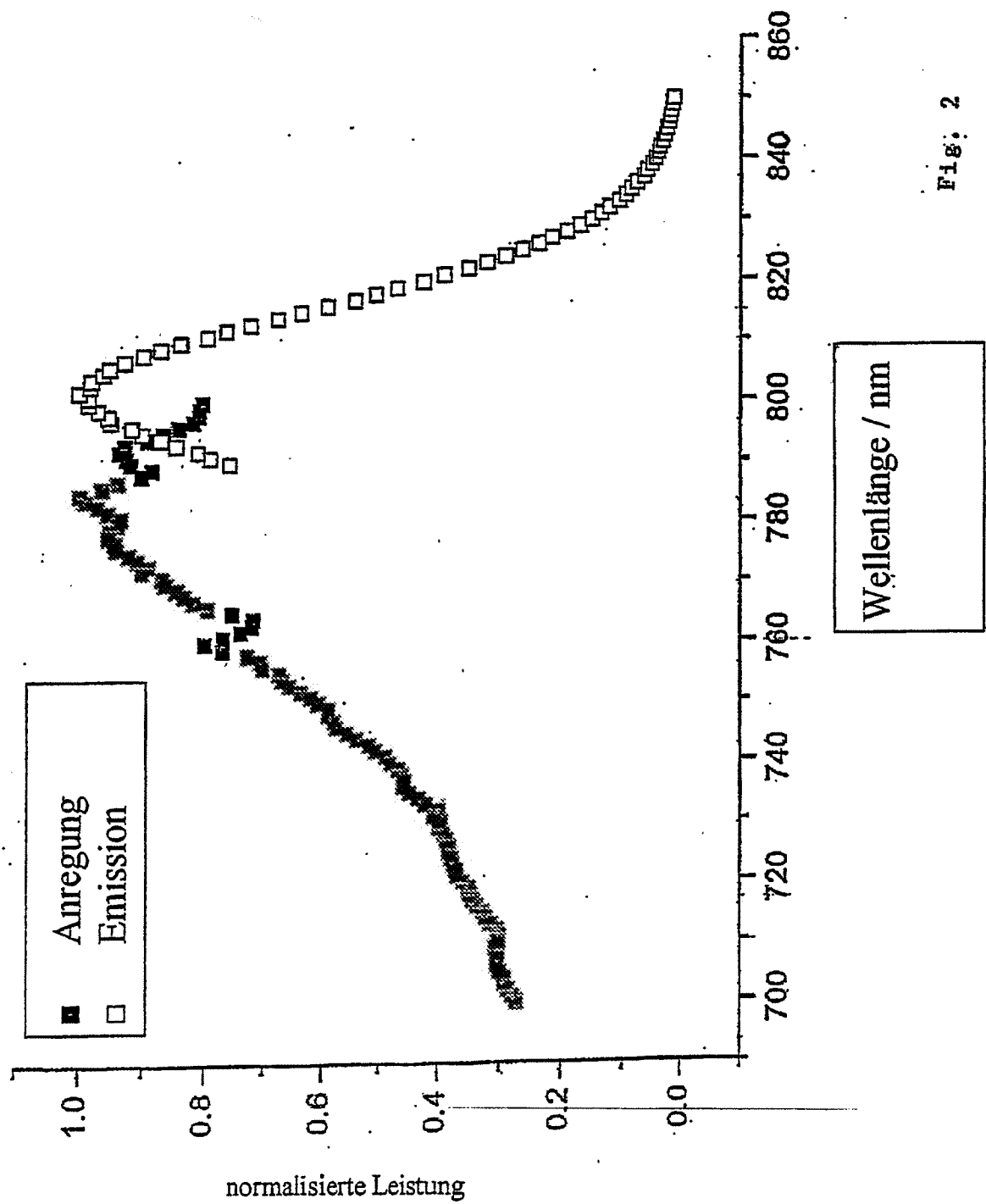
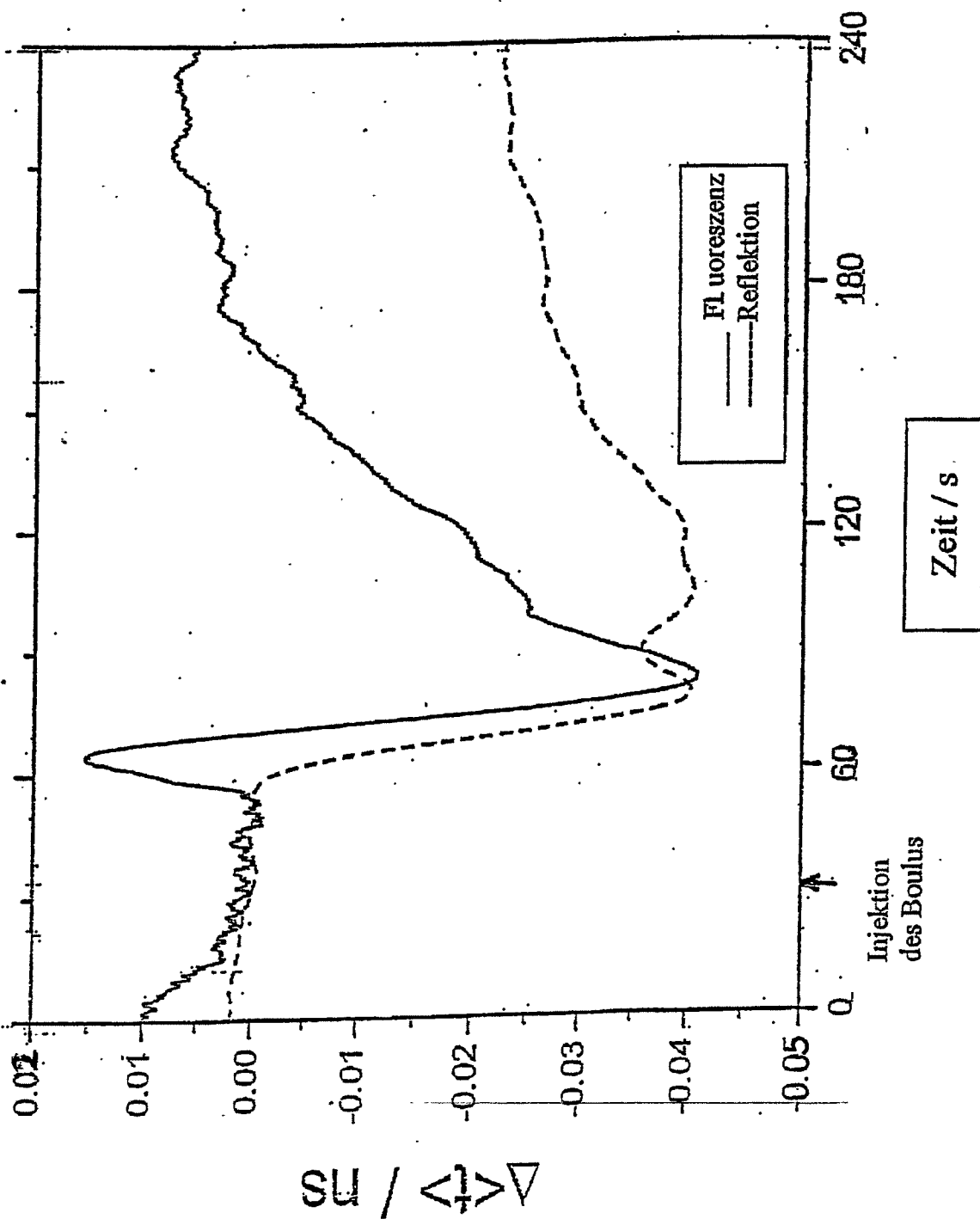


Fig. 2

3/4

Fig. 3





4/4

Fig. 4

